

auxotrophic and respiration deficiency mutants. The dissolution of the waste materials reduced their toxic and mutagenic action. These materials after dissolution to 1:100 and 1:1000 from the native concentration had no mutagenic and toxic activity. The necessity of such experiments concerning of the mutagenic and toxic action of waste materials (especially their organic compounds) with genetically suitable models are discussed, as well as the action of such materials in ecosystems.

## УКАЗАТЕЛЬ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бочков Н. П., Шрам Р. Я., Куликов Н. П. Система оценки химических веществ на мутагенность для человека: общие принципы, практические рекомендации и дальнейшие разработки. — Генетика, 1975, т. XI, № 10, с. 156—169.
2. Кожова О. М. Продуктивность Байкала и антропогенные изменения его природы. Иркутск, 1974, с. 327.
3. Кожова О. М. Новые материалы по фауне и флоре Байкала. Иркутск, 1976. 166 с.
4. Инге-Вечтомов С. Г. Новые генетические линии дрожжей *S. cerevisiae*. — Вестн. Ленингр. ун-та, 1963, № 1, с. 117—121.
5. Райпулис Е. П., Кожин С. А. Сравнение мутабельности локусов  $ad_1$  и  $ad_2$  у дрожжей *S. cerevisiae* под действием азотистой кислоты. — Тр. Моск. о-ва испыт. природы, 1966, т. 22, с. 135—139.
6. Инге-Вечтомов С. Г., Кожин С. А. Сравнение специфичности действия ультрафиолетовых и рентгеновых лучей на мутабельность дрожжей. — В кн.: Исследование по генетике. Вып. 2. Л., 1964, с. 77—85.
7. Захаров И. А., Инге-Вечтомов С. Г. Выделение аскоспор дрожжей для генетического анализа без использования микроманипулятора. — В кн.: Исследования по генетике. Вып. 2. Л., 1964, с. 134—139.
8. Захаров И. А. и др. Сборник методик по генетике дрожжей-сахаромицетов. Л., 1976. 112 с.
9. Ветров В. А., Декин С. А. Изучение распространения примеси с помощью радиоактивного индикатора. — В кн.: Течения в Байкале. Новосибирск, 1977, с. 133—
10. Drake I. W. Environmental mutagenesis involving strategies in the USA. — Mutat. Res., 1975, vol. 33 (1), p. 65—75.

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЧАСТОТЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ИНДУЦИРОВАННЫХ РЕНТГЕНОВЫМИ ЛУЧАМИ ДОМИНАНТНЫХ ЛЕТАЛЬНЫХ МУТАЦИЙ У САМОК И САМЦОВ РАЗНЫХ ВИДОВ ЖИВОТНЫХ

Л. А. АЛЕКСЕЕВИЧ, Л. В. БАРАБАНОВА,  
К. В. БАТТИ, М. М. ТИХОМИРОВА, Р. И. ЦАПЫГИНА

Кафедра генетики и селекции ЛГУ

Становление мутаций — многоступенчатый процесс. Осуществляясь в единичной клетке, он является отражением сложных внутриклеточных изменений, обусловленных как самой клеткой, так и организмом в целом и отдельными его системами, т. е. имеет место системный контроль цитогенетических процессов [16, 17].

В этом плане представляет интерес проблема дифференциальной мутабельности полов, которую можно рассматривать с позиций системного контроля мутационного процесса как проявление дифференциальной чувствительности к факторам среды особей разного пола.

Повышенная чувствительность мужского пола — общебиологическое явление. Дифференциальная мутабельность полов в основном отражает эту закономерность. По большинству типов мутаций самцы мутабельнее самок. Это касается прежде всего дрозофилы [6, 18, 29] — наиболее изученного в этом отношении объекта. Аналогичная картина

наблюдается у шелкопряда [1, 53], мышцы [45, 46] и других млекопитающих [37]. Не представляют исключения в этом отношении и растения [1, 33, 48]. Это может быть обусловлено большей чувствительностью организма самца в целом, но нельзя не иметь в виду и различий мужских и женских половых клеток. В сперматогенезе значительно интенсивнее делятся клетки, нежели в оогенезе. В сперматиде идет процесс смены белков в ДНП: гистоны заменяются протаминами. У большинства видов кроссинговер с большей частотой идет у самок [28], у самцов дрозофилы он вообще отсутствует, а у чешуекрылых он отсутствует у самок. Стадия роста в оогенезе связана с накоплением большого количества цитоплазмы, чего нет в сперматогенезе. Особенно существенно в этом отношении различаются зрелые половые клетки — яйцеклетки и сперматозоиды.

Таким образом, и различия самих половых клеток могут определять дифференциальную мутабельность. Гермафродитные организмы, у которых мужские половые клетки мутабельнее женских, являются особенно ярким тому примером [33, 48]. Об этом же говорят и факты, полученные на шелкопряде. Гетерогаметный женский пол у этого объекта более чувствителен к экстремальным факторам, но более мутабельны самцы [1, 54, 53].

В связи с изложенным представляет интерес провести сравнительное исследование мутабельности самок и самцов разных видов животных, различающихся биологией пола, характером гаметогенеза и эмбриогенеза, например, дрозофилы, курицы и мыши. Однако в этом случае невозможен количественный учет мутаций определенного типа у этих организмов. Соответствующие методы разработаны лишь для дрозофилы. Остается единственная возможность — анализировать доминантные летальные мутации (ДЛМ), которые широко исследуются у различных объектов.

Частоту ДЛМ определяют как отношение числа погибших эмбрионов к числу учтенных. При такой методике учета ДЛМ являются сборной группой. В них входят зиготы, погибшие как в результате повреждения генетического аппарата, так и в силу различных физиологических причин, подавления синтеза ДНК. В число ДЛМ у дрозофилы могут войти при принятой методике и неоплодотворенные яйца [31]. Однако у дрозофилы в смешанной культуре неспарившиеся самки почти не откладывают яиц и, таким образом, не искажают учитываемую частоту ДЛМ [14].

Цитологический анализ погибших эмбрионов у дрозофилы и мыши показал, что подавляющее большинство из них гибнет в силу нарушений генетического аппарата. Поэтому несмотря на их гетерогенность все погибшие эмбрионы относятся к одной группе — ДЛМ. Возникающие при этом некоторые неточности можно отнести к числу шумов генетического эксперимента, который в данной методике не больше, чем в любой другой. Проигрыш в точности определения частоты ДЛМ окупается простотой применения этого метода на многих объектах. Для сравнительного анализа мутабельности разных видов животных он является единственно возможным.

Генетическими причинами ДЛМ у дрозофилы являются анеуплоидия [27] и различные одно- и двуударные хромосомные aberrации [30, 39, 40, 56]. У мышей большинство ДЛМ связано с грубыми хромосомными aberrациями [21] и анеуплоидией. На мышях же показано, что при первом дроблении зиготы частоты blastомеров с хромосомными aberrациями (главным образом с делециями) хорошо согласуется с величиной доимплантационной смертности [26], которая является одним из критериев ДЛМ. У кур генетическая природа ДЛМ не изучена.

Возможно, именно в силу гетерогенности ДЛМ по ним не наблюдается четкой картины дифференциальной мутабельности полов. Так, на дрософиле показана и одинаковая мутабельность самок и самцов [24, 49] и повышенная мутабельность самцов [36, 23] или самок [15]. К. В. Батти и М. М. Тихомирова [8] на четырех линиях и их реципрокных гибридах показали значительно более высокую мутабельность зрелых женских половых клеток дрософилы (ооциты-14) по сравнению со сперматозоидами. Однако методики в цитируемых работах различаются дозами облучения, условиями спаривания мух, стадиями гаметогенеза, в которых индуцируются мутации, и многими другими методическими особенностями, что, вероятно, и является причиной имеющих различий.

При изучении других насекомых также не было вскрыто однозначной закономерности. В роде *Oncopeltus*, имеющем голокинетические хромосомы, частота ДЛМ значительно выше в зрелых половых клетках самок, нежели самцов [35]. Эти же авторы [34] показали одинаковую частоту ДЛМ, индуцированных у личинок обоих полов мясной мухи. У шелкопряда в отличие от других типов мутаций в зрелых половых клетках самок индуцируется значительно больше ДЛМ, чем у самцов [5], а наиболее мутабельные стадии оо- и сперматогенеза дают при этом одинаковые частоты ДЛМ [3]. Стерильность самцов, бабочек совки *Spodoptera littoralis* Boisд. при действии  $\gamma$ -лучей так же, как и у шелкопряда, значительно ниже, чем у самок [57, 52].

На птицах исследования в этом плане единичны. Так, при добавлении в корм японскому перепелу хлористой ртути выводимость цыплят снижалась до 25% при кормлении самок и лишь до 50% при кормлении самцов [55]. На млекопитающих также имеются единичные работы, в основном они выполнены на мышах. Так, Робертс [42] показал, что пролонгированное облучение в малых дозах стерилизует самок и оставляет плодовитыми самцов. При действии некоторых химических мутагенов самцы, наоборот, более мутабельны, чем самки [43]. Облучение самцов крыс вызывает большую эмбриональную смертность, нежели воздействие на самок, к тому же в условиях экранирования тела [20]. Следует отметить, что у птиц и млекопитающих исследовалась чувствительность только зрелых половых клеток самок и самцов, т. е. ооцитов и сперматозондов.

Учитывая изложенную выше пеструю и неоднозначную картину, представляло интерес провести сравнительное исследование мутабельности самок и самцов разных видов животных по критерию ДЛМ с учетом стадий гаметогенеза и особенностей гаметогенеза, а также эмбрионального развития.

**Материал и методика.** В качестве объектов исследования использовали плодовую мушку *Drosophila melanogaster*, домашнюю курицу *Gallus domesticus* и домовую мышь *Mus musculus*. Эти виды относятся к разным типам и классам и резко различаются биологией развития и размножения, гаметогенезом (особенно оогенезом), характером эмбрионального развития.

У дрософилы и курицы эмбриогенез протекает вне материнского организма, у мыши эмбриональное развитие внутриутробное. Гетерогаметный пол дрософилы и мыши — мужской, курицы — женский.

У всех трех видов животных оогенез алиментарного типа [9, 10, 2]. Однако у дрософилы имеет место разновидность этого типа — меростигматический (нутриментарный) оогенез, у курицы и мыши — паноистический (фолликулярный) оогенез.

Геном ооцита дрософилы в стадии роста не функционирует, вся РНК поступает в него из питающих клеток, а хромосомы спирализованы

ны и формируют кариосферу [25, 32]. Желток имеет смешанное происхождение — вначале желточные сферы образуются из экзогенного материала, а затем растут за счет белков, синтезирующихся в цитоплазме, но на базе РНК, поступающей из питающих клеток.

Фолликулярный оогенез курицы и мыши содержит в себе черты солитарного и панонистического типа. Начало стадии роста (превителлогенез) осуществляется по солитарному типу — геном ооцита интенсивно функционирует, синтезируя большие количества и-РНК. У курицы в конце цитоплазматического и во время трофоплазматического роста ооцита показан переход р-РНК из фолликулярных клеток. На этапе вителлогенеза накопление питательных веществ осуществляется за счет или фолликулярных клеток, или материнского организма.

В начальный период в ооцитах курицы хромосомы образуют ламповые щетки, ядра увеличиваются до гигантских размеров. С началом вителлогенеза хромосомы спирализуются, образуя кариосферу; функционирование генома ооцита прекращается и начинается отложение желтка, который синтезируется в печени самки, с кровью переносится в периоцитное пространство и по межклеточным каналам в фолликулярном эпителии попадает к ооцитам. В конце вителлогенеза у птиц существует этап, отличный от того, что имеет место у других животных, — короткий (у кур 5—10 дней) период интенсивнейшего отложения желтка до 90% объема (у кур в последние сутки — 5000 мм<sup>3</sup>) при неактивном геноме.

У мышей в превителлогенезе геном ооцита, как и у кур, интенсивно функционирует, синтезируя большие количества РНК. Типичных ламповых щеток в ядрах не наблюдают, однако Е. В. Зыбина [11] сообщила о хромосомах, напоминающих это образование. С переходом к вителлогенезу геном инактивируется, образуя, как и у кур, кариосферу. Яйцеклетка мыши почти лишена желтка.

Учитывая повышение радиочувствительности в ряду дрозофила — курица — мышь, подбирались соответствующие дозы рентгеновых лучей. Режим облучения животных приведен в табл. 1.

В экспериментах с дрозофилой использовалась линия дикого типа Кантон-С. Облучались виргинные самки или самцы трехдневного возраста. Необходимые стадии оо- и сперматогенеза выделяли методом последовательных яйцекладок (самки) и скрещиваний (самцы). Сравнивалась мутабельность зрелых половых (ооциты 14 и сперматозоиды) и мейотических (ооциты 1—14 и сперматоциты) клеток. Учет ДЛМ велся по общепринятой методике. Через 30 мин после облучения производилось скрещивание. При облучении самок соотношение ♀:♂ составляло 1:1. При облучении самцов — 1 ♂:3 ♀, но в период учета откладываемых яиц — 1 ♂:1 ♀ для достижения максимальной оплодотворяемости яйцеклеток. Для анализа мутабельности наиболее зрелых ооцитов 14 учитывались ДЛМ в 1-е сутки после облучения, ооцитов 1—14 суммарно — на 1—2-е, 3—4-е и 5—6-е сутки. Мутабельность сперматозоидов оценивалась в 1-е сутки, а сперматоцитов — на 7—8-е сутки после облучения. Кладки яиц получали на агаровых пластинках. Продолжительность каждой кладки составляла 4—6 ч, после чего пластинка заменялась на свежую. Учет общего количества яиц производили по окончании яйцекладки, а через 48 ч учитывали число яиц, из которых не вылупились личинки. Их количество, выраженное в процентах, и составляло частоту ДЛМ.

Среди яиц, из которых не вылупились личинки, есть белые и желтые. Белые представлены неоплодотворенными яйцами и теми, в которых эмбрионы погибли очень рано (ранняя леталь), а в желтых яйцах эмбрионы погибли на более поздних стадиях (поздняя леталь). Такие



яйца учитывались отдельно. Всего было поставлено по 3—5 повторностей, которые дали однотипные результаты и после соответствующей статистической обработки объединены и представлены в таблицах в виде суммарных данных.

Таблица 1

Режим облучения животных					
Вид животного	Доза, р	Напряжение, кВ	Сила тока, мА	Фильтр	Расстояние от анода, см
Дрофы	1000	200	20	0,5 мм Cu	20
Курица	400	190	15	0,5 мм Cu	36
Мышь	300	190	15	0,5 мм Cu + + 1,0 мм Al	36

Для экспериментов с курицей использовали птиц породы леггорн—20 самок и 4 самца в возрасте 11 мес. К облученным самкам подсаживали необлученных самцов, а облученных самцов —к необлученным самкам, которые предварительно в течение двух месяцев были изолированы от самцов. Каждый самец трижды на двухдневный период подсаживался к новым группам самок (5 голов). Таким образом использовалась сперма в течение шести дней после облучения.

Сбор яиц от облученных самок производился в течение 15 дней. Этот период захватывал конечную фазу образования желтка, период быстрого роста ооцитов [44] и, возможно, последние дни периода медленного роста. Яйца хранили при температуре +8°C. Инкубация проводилась при дифференцированном режиме: с понижением температуры и влажности к ее концу.

В ходе инкубации проводилось периодическое овоскопирование с целью выявления неразвивающихся яиц, которые вскрывали, подсчитывали количество неоплодотворенных яиц и погибших зародышей. Устанавливали возраст эмбрионов и стадию, на которой прекратилось развитие. Аналогичная доза облучения в экспериментах с японским перепелом приводила к достоверному снижению выводимости яиц во все периоды инкубации.

В экспериментах с мышами использовали линию СВА. Виргинных самок и самцов, одновременно подвергали действию рентгеновых лучей. Скрещивание облученных в стадии проэструса самок с необлученными самцами проводили в два срока: непосредственно после облучения (облучены зрелые ооциты 1) и через 2—3 эстральных цикла (облучены незрелые ооциты). С этой целью к трем облученным самкам подсаживали по одному необлученному самцу. Самок с влагалищными пробками отбирали в течение двух дней и отсаживали. Забой проводили на 15—16-й день беременности.

Скрещивание облученных самцов с необлученными самками проводили в течение четырех недель после облучения с 7-дневными интервалами. Сразу после облучения к одному обработанному самцу подсаживали трех виргинных самок. В 1-ю неделю после облучения реализуются облученные сперматозоиды, во 2-ю неделю — сперматиды, в 3-ю и 4-ю неделю — сперматоциты.

О беременности самок судили по влагалищным пробкам. Забивали самок на 15—16 день. Определяли общую эмбриональную смертность, смертность до и после имплантации [43].

У забитых животных подсчитывали число живых (А) и погибших эмбрионов (Б) и желтых тел в яичниках (В). Определяли число мест

имплантации  $(A+B)$ ; количество яиц  $(B-(A+B))$  и зигот, погибших до имплантации  $(B-(A+B))$ .

Вычисляли общую эмбриональную смертность  $\frac{B-A}{B} 100\%$ , смертность до имплантации  $\frac{B-(A+B)}{B} 100\%$  и после имплантации

$$\left[ \frac{B-A}{B} - \frac{B-(A+B)}{B} \right] 100\%$$

**Результаты.** Как видно из табл. 2, зрелые половые клетки самок дрозофилы (ооциты 14) намного чувствительнее зрелых клеток самцов (сперматозоиды). Если в первом случае частота ДЛМ составляет 74,4 то во втором — лишь 16,8%. В обоих случаях большинство эмбрионов гибнет на ранних стадиях (72—78%). Суммарная частота ДЛМ в ооцитах 1—14 ниже, чем в сперматоцитах (20,2 и 46,4% соответственно). Сравнение зрелых и мейотических клеток в оо- и сперматогенезе свидетельствует о разных соотношениях их мутабельности. Если ооциты 14 значительно мутабельнее мейотических клеток в целом (74,4 и 20,2%), то в сперматогенезе картина обратная — в сперматоцитах частота ДЛМ выше (46,4%), нежели в сперматозоидах (16,8%). Доля ранних леталей высока (64 и 59%), но ниже, чем в зрелых клетках.

В табл. 3 приведены результаты экспериментов на курице. На этом объекте в отличие от дрозофилы можно учесть количество неоплодотворенных яиц. Оно значительно выше при облучении сперматозоидов (18,0%), нежели яйцеклеток (4,9%), хотя и в последнем случае эта частота выше, чем в контроле. Что касается ДЛМ, то в отличие от дрозофилы сперматозоиды оказываются намного мутабельнее (47,6%) ооцитов (18,9%). Если добавить к этим величинам количество неоплодотворенных яиц (как это имеет место в экспериментах на дрозофиле), найденная закономерность сохраняется. Доля эмбрионов, погибших до замыкания аллантаона (ранняя гибель), велика — 70% при облучении самок и 92% — самцов. Доля неоплодотворенных яиц составляет 20—27%.

В табл. 4 приведены результаты экспериментов на мышах. В отличие от дрозофилы суммарная частота ДЛМ в ооцитах мыши значительно выше (85,8%), чем в сперматоцитах (53,7%), но эти различия обусловлены только повышенной частотой предимплантационной гибели зигот при облучении самок (57,5%) по сравнению с самцами (23,3%). Сперматозоиды мышей, как и дрозофилы, менее мутабельны (41,2%), чем сперматоциты (53,7%). И здесь это обусловлено только различиями в доимплантационной гибели зигот, причем при облучении сперматозоидов возрастает только частота постимплантационной гибели.

**Обсуждение.** Итак, у дрозофилы зрелые половые клетки самок (ооциты 14) по критерию ДЛМ значительно более мутабельны, нежели сперматозоиды (рисунок). Аналогичные факты получены К. В. Ватти и М. М. Тихомировой [8], Е. М. Литвиновой и П. Я. Шварцманом [15]. Различия в состоянии ДНП вряд ли могут быть этому причиной, так как по другим типам мутаций сперматозоиды чувствительнее ооцитов 14 [29].

Очевидно, блокирование дробления зиготы при облучении самок осуществляется за счет повреждения не только хромосомного материала (которое у самок не столь значительно, как у самцов), но и цитоплазмы. Известно, что даже относительно низкие дозы ионизирующей радиации блокируют переход клеток в стадию S из-за угнетения синтеза некоторых ферментов. В клетке появляются чуждые исходному генотипу белки с новыми свойствами [4, 22]. Можно предположить, что они затрагивают ферменты, имеющие отношение к репарации. Рустед

Таблица 2

## Частота ДЛМ в оо- и сперматогенезе дрозофилы

Вариант		Число яиц	ДЛМ						Доля ДЛМ, %	
			ранние		поздние		всего		ранних	поздних
			число	%	число	%	число	%		
Контроль		1672	80	$4,8 \pm 0,52$	43	$2,6 \pm 0,39$	123	$7,4 \pm 0,64$	$65,0 \pm 4,30$	$35,0 \pm 4,30$
Оогенез:	зрелые клетки ооциты 14	1520	822	$54,0 \pm 1,28$	310	$20,4 \pm 1,03$	1132	$74,4 \pm 1,12$	$72,6 \pm 1,32$	$27,4 \pm 1,32$
	ооциты 1—14	11176	1443	$12,9 \pm 0,29$	814	$7,3 \pm 0,24$	2257	$20,2 \pm 0,39$	$63,9 \pm 1,00$	$36,1 \pm 1,00$
Сперматогенез:	зрелые клетки сперматозонды	2605	343	$13,2 \pm 0,66$	96	$3,6 \pm 0,36$	439	$16,8 \pm 0,73$	$78,1 \pm 1,97$	$21,9 \pm 1,97$
	сперматоциты	3114	856	$27,5 \pm 0,80$	583	$18,9 \pm 0,70$	1444	$46,4 \pm 0,89$	$59,2 \pm 1,29$	$40,8 \pm 1,29$

Таблица 3

## Частота ДЛМ в оо- и сперматогенезе курицы

Вариант		Число яиц			ДЛМ						Всего неразв.		Уд. вес в ДЛМ, %		Уд. вес в неразв., %		
		общее	неоплодотв.		ранние		поздние		всего				ранних	поздних	ранних	поздних	всего
			число	%	число	%	число	%	число	%							
Контроль	_____	303	3	1,0±0,56	19	6,3±1,41	5	1,6±0,72	24	7,9±1,59	27	8,9	80	20	71	18	11
Ооциты	_____	143	7	4,9±1,73	19	13,2±2,83	8	5,7±1,99	27	18,9±3,35	34	23,8	70	30	55	25	20
Сперматозонды	_____	372	67	18,0±1,99	165	44,3±2,83	12	3,3±1,02	177	47,6±2,89	244	65,6	92	8	67	6	27

соавторами [47] считают, что радиационный блок митозов является результатом отсутствия в облученной клетке некоего вещества белковой природы — «триггера», которое необходимо для репликации центриолей. А. М. Кузин [12] распространяет представление о «триггере» как о веществе, включающем тот или иной процесс, и на дерепрессию генов.

Таблица 4

Частота ДЛМ в оо- и сперматогенезе мышей

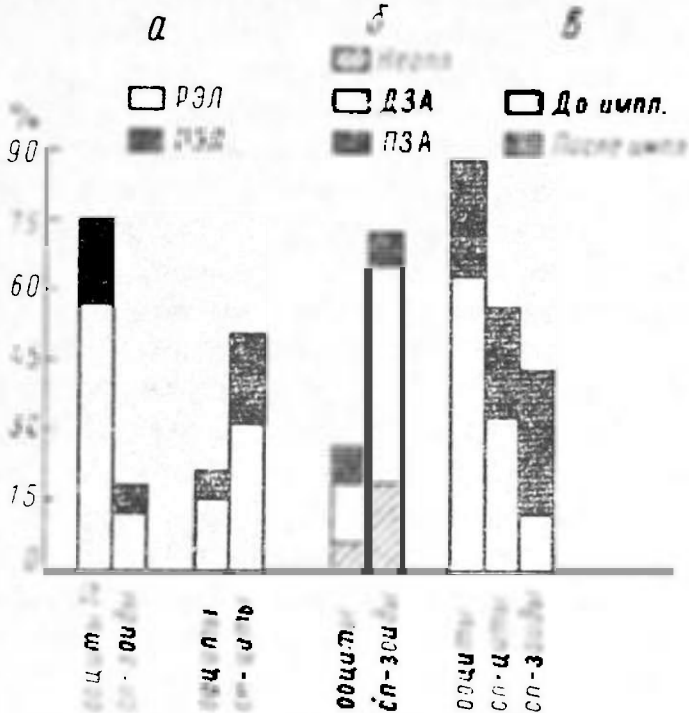
Вариант	Число мышей	Число желтых тел	Частота ДЛМ, %			Доля ДЛМ, %	
			до имплантации	после имплантации	всего	ранних	поздних
Контроль . . . .	10	108	9,3±2,7	16,6±3,4	25,9±4,2	46	54
Ооциты . . . . .	25	205	57,5±3,5	28,3±3,1	85,8±2,3	68	32
Сперматозиготы . . . .	25	171	23,3±3,1	30,4±3,3	53,7±3,8	44	56
Сперматозонды . . . .	12	92	10,0±3,0	31,2±4,6	41,2±5,1	25	75

Известно также, что ооцит дрозофилы содержит в больших количествах РНК, поставляемую в него питающими клетками [25]. За счет этой РНК и осуществляются первые этапы эмбрионального развития. Ее повреждение может быть причиной гибели зиготы. Показано [14], что УФ-облучение эмбрионов дрозофилы вызывает преимущественно повреждение РНК цитоплазмы. Поскольку зрелый ооцит 14 утрачивает контакты с питающими клетками, пополнение запаса РНК невозможно.

Немаловажную роль играет и тот факт, что в облученных сперматозоидах повреждения не восстанавливаются [38]. Репарация этих повреждений осуществляется уже в зиготе за счет необлученного ооцита [41]. В ооцитах 14 хромосомные разрывы тоже не восстанавливаются в течение 24 ч до оплодотворения [40], но облученному ооциту необлученный сперматозоид «помочь» не может.

Суммарный анализ мутабельности оо- и сперматоцитов, т. е. аналогичных мейотических стадий гаметогенеза, говорит о большей чувствительности последних. Возможной причиной этих различий может быть пополнение молодых ооцитов неповрежденной и-РНК из питающих клеток. Повреждения, возникающие в облученных сперматоцитах, залечены за счет ооцита быть не могут, так как процесс становления мутаций в них заканчивается раньше оплодотворения.

Известно также, что в ооцитах процессы репарации премутационных повреждений идут более интенсивно, чем в сперматоцитах [3, 19]. Можно предположить, что процесс кроссинговера, идущий в ооцитах



Смертность потомков облученных родителей на разных этапах эмбриогенеза.  
а — дрозофила; б — курица; в — мышь.



и не имеющий места в сперматоцитах, способствует репарации. Однако показано, что блокирование кроссинговера инверсией не влечет за собой повышения мутабельности ооцитов [7], так что эта причина не может играть ведущей роли. Наконец, гомогаметная самка передает облученные X-хромосомы всем своим потомкам, а гетерогаметный самец — только половине, и это могло бы быть причиной большей гибели зигот от облученной матери. Однако у шелкопряда гомогаметен самец, и тем не менее в облученных ооцитах возникает много больше ДЛМ, чем в сперматозоидах [5]. Возможной причиной повышенной мутабельности сперматоцитов по сравнению со сперматозоидами может быть и начинающийся в них процесс смены белков в ДНП.

Итак, дифференциальная мутабельность зрелых и мейотических клеток дрозофилы зависит в значительной мере от структуры и функции самих половых клеток.

Обратимся к другому объекту — курице. В отличие от дрозофилы самки здесь гетерогаметны, кроссинговер идет у обоих полов. Тип яйца курицы иной. В нем сосредоточено большое количество готовых к употреблению питательных веществ (желток и белок), синтезированных организмом матери.

У курицы удается вычленивать неоплодотворенные яйца (см. рисунок). Они составляют 1/4—1/5 часть индуцированных ДЛМ и 1/10 спонтанных и их количество примерно одинаково у самок и самцов.

Повышение количества неоплодотворенных яиц при облучении петухов может быть связано с потерей сперматозоидами оплодотворяющей способности и с недостатком спермы, поступившей в половые пути кур, из-за короткого срока пребывания их с самцами (2 дня). У кур в отличие от дрозофилы и мыши сперматозоиды мутабельнее ооцитов. Это согласуется с данными Такао [51], по которым дозы, не приводящие к серьезным нарушениям репродуктивной функции, для самцов составляют 500 р, а для самки — 1000—1500 р. Очевидно, гомогаметность самцов как причина этого явления отпадает (по аналогии дрозофила — шелкопряд). Возможно, главная причина низкой мутабельности ооцитов — сочетание неактивного генома, организованного в кариосферу с колоссальным количеством устойчивых к облучению готовых питательных веществ, а не высокочувствительной РНК, как у дрозофилы.

Другой причиной низкой частоты ДЛМ, зарегистрированной в ооцитах, может быть гибель облученных наиболее чувствительных фракций. Подтверждением этого предположения может служить снижение яйценоскости облученных кур, очевидно, за счет того, что поврежденные яйцеклетки не овулируют.

Следующий объект — мышь — представляет интерес в том плане, что (в отличие от дрозофилы и курицы) весь эмбриогенез протекает под контролем и за счет материнского организма. Как и у дрозофилы, самки гомогаметны, но кроссинговер имеет место у обоих полов. У мышей (в отличие от дрозофилы) ооциты мутабельнее не только сперматозоидов, но и сперматоцитов (см. рисунок). Это тем более поразительно, что из анализа выпадают наиболее зрелые и наиболее чувствительные ооциты II [50]. Очевидно, главной причиной этого является поражение облученного материнского организма, в котором протекает развитие эмбриона. Подтверждением этому могут служить эксперименты Е. А. Пожидасва [20], который изучал ДЛМ у крыс при тотальном облучении самок, при облучении яичников в условиях экранирования тела, при экранировании яичников в облучаемой самке. Оказалось, что в случае экранирования гонад частота ДЛМ все же воз-

падает с 4 до 19%, а тотальное облучение и экранирование тела дают соответственно 47 и 41% ДЛМ.

Определенную роль в очень высокой чувствительности ооцитов мыши, вероятно, играет и то обстоятельство, что у этого объекта РНК синтезируется целиком ооцитом и в случае ее повреждения не может быть замещена поступающей извне, как это имеет место у насекомых и птиц.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сравнительное изучение ДЛМ у дрозофилы, курицы и мыши позволяет сделать следующее заключение. Сперматозоиды дрозофилы и мыши менее мутабельны, чем ооциты, тогда как у курицы, наоборот, они значительно мутабельнее ооцитов. Сравнение мутабельности одноименных стадий гаметогенеза, которое проведено у дрозофилы и мыши, показало, что у дрозофилы сперматоциты мутабельнее, чем ооциты, а у мыши — наоборот.

Следовательно, при учете ДЛМ не представляется возможным однозначно ответить на вопрос о том, особи какого пола являются более мутабельными, но с уверенностью можно сказать, что у курицы мутабельнее самцы, а у мышей — самки. Причина невозможности однозначного ответа на этот вопрос у дрозофилы связана с тем, что у этого объекта мутабельность гамет в значительной мере определяется структурой и функцией самих половых клеток.

Мутабельность гамет мыши также определяется их свойствами, а в определении частоты ДЛМ значительную роль играет материнский организм.

### Summary

The frequency of the dominant lethal mutations induced in oo- and spermatogenesis by X-irradiation was studied in different species of animals: *Drosophila melanogaster*, *Gallus domesticus*, *Mus musculus*. Using such comparative analyses it has been shown that the female mature germ cells of *Drosophila* were more sensitive than spermatozoides. Meanwhile the total number of dominant lethals induced in spermatozoides was higher than that in female germ cells. The results obtained in *Gallus domesticus* were similar and the sensitivity of spermatozoides was much higher as in oocytes. In *Mus musculus* oocytes were more sensitive than spermatozoides and spermatocytes, as well. These results were obtained only by the analyses of the preimplantation death. The possible mechanisms of the sex different sensitivity for using such phenomena for quantitative analysis of the mutation process are discussed in this paper.

### УКАЗАТЕЛЬ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абслева Э. А., Бурыченко Г. М., Джмухадзе Н. Ф. Мутагенное действие этилметансульфоната на *Bombix mori*. — Генетика, 1973, т. 9, № 3, с. 63—68.
2. Айзенштат Т. Б. Рост ооцитов и вителлогенез. — В кн.: Современные проблемы оогенеза. М., 1977, с. 5—50.
3. Анисимова Л. Е. Сравнительное изучение частоты нерасхождения и потерь половых хромосом у самок и самцов *Drosophila melanogaster* при комбинированном действии кофенна и рентгеновых лучей. — Вестн. Ленингр. ун-та, 1975, № 9, с. 145—147.
4. Астауров Б. Л. Наследственность и развитие. М., 1974. 359 с.
5. Астауров Б. Л., Фролова С. Л. Искусственные мутации у тутового шелкопряда (*Bombix mori* L.). V. Стерильность и аномалии сперматогенеза в потомстве рентгенизированных бабочек в связи с некоторыми вопросами общегенетического и мутационного действия X-лучей. — Биол. журн., 1935, т. 4, № 5, с. 861—892.
6. Батти К. В. Сравнительное изучение мутабельности особей разных полов. I. Методические вопросы. — В кн.: Исследования по генетике. Вып. 5. Л., 1974, с. 24—28.
7. Батти К. В., Михеев В. С., Куришко К. А. Сравнительное изучение мутабельности самок и самцов дрозофилы в связи с процессами конъюгации и кроссинговера. — Генетика, 1977, т. 13, № 2, с. 264—271.

8. Ватти К. В., Тихомирова М. М. Спонтанные и индуцированные радиацией доминантные летальные мутации у самок и самцов дрозофилы. — В кн.: Исследования по генетике. Вып. 6. Л., 1976, с. 32—44.
9. Гагинская Е. Р. О классификации типов оогенеза. — Оогенез, 1975, т. 6, № 6, с. 539—545.
10. Грузова М. Н. Функциональная морфология ядерных структур в связи с разными типами оогенеза. — Успехи соврем. генет., 1971, № 3, с. 206—212.
11. Зыбина Е. В. Структура ядра и ядрышка в оогенезе мыши. — Цитология, 1968, т. 10, № 1, с. 36—42.
12. Кузнец А. М. Молекулярная радиобиология клеточного ядра. М., 1973. 208 с.
13. Левин В. Л., Козлова М. А. Фотореактивация цитоплазматических повреждений у эмбрионов дрозофилы, облученных на стадиях мейоза и зиготы УФ-лучами разной длины волны. — Цитология, 1977, т. 19, № 4, с. 434—439.
14. Литвинова Е. М., Пономарева Н. П. Роль неоплодотворенных яиц в динамике выхода доминантных летальных мутаций, индуцированных в зрелой сперме дрозофилы этиленином. — В кн.: Химический мутагенез. Л., 1974, с. 71—79.
15. Литвинова Е. М., Шварцман П. Я. Изучение механизма инактивации и мутагенеза при действии этиленимина на половые клетки *Drosophila melanogaster*. III. Поздняя эмбриональная гибель. — Генетика, 1973, т. 9, № 7, с. 74—79.
16. Лобашев М. Е. Физиологическая (паранекротическая) гипотеза мутационного процесса. — Вестн. Ленингр. ун-та, 1947, № 8, с. 10—29.
17. Лобашев М. Е. Физиологическая гипотеза мутационного процесса. — В кн.: Исследования по генетике. Вып. 6. Л., 1976, с. 3—15.
18. Лобашев М. Е., Ватти К. В., Тихомирова М. М. и др. Сравнительное изучение мутационного процесса у самок и самцов *Drosophila melanogaster*. — В кн.: Тезисы докл. II съезда ВОГиС им. Н. И. Вавилова. М., 1972, с. 50—51.
19. Михеев В. С. Анализ частоты рецессивных летальных мутаций, индуцированных рентгеновыми лучами у самок и самцов дрозофилы. — Вестн. Ленингр. ун-та, 1974, № 21, с. 126—130.
20. Пожидаев Е. А. Оогенез млекопитающих. Л., 1967. 171 с.
21. Семенов Х. Х., Малашенко А. М. Цитологическое исследование ранней эмбриональной смертности у лабораторных мышей. — Бюлл. эксперим. биол. и мед., 1975, т. 80, № 10, с. 107—110.
22. Шальнов М. И. Радиационные нарушения регуляции белкового синтеза. — В кн.: Радиационное поражение и восстановление структур и функций макромолекул. М., 1977, с. 150—179.
23. Шварцман П. Я., Плясов Ю. И., Савина В. А. Изучение частоты доминантных летальных мутаций, индуцированных рентгеновыми лучами и этиленином на разных стадиях спермато- и оогенеза у дрозофилы. — Вестн. Ленингр. ун-та, 1971, № 9, с. 129—139.
24. Bateman A. J., Chandley A. C. Effects of X-ray on female germ cells of *Dr. melanogaster*. I Dominant lethal mutation and oviposition in relation to treated stages. — Intern. J. Rad. Biol., 1963, vol. 7, N 4, p. 385—394.
25. Bier K., Kunz W., Ribbert D. Insect oogenesis with and without lampbrush chromosomes. — In: Chromosome today. New York, 1969, vol. 2, p. 107—115.
26. Brewen J. G. e. a. Studies on chemically induced dominant lethality. The cytogenetic basis of MMS-induced dominant lethality in postmeiotic male germ cells. — Mut. Res., 1975, vol. 33, N 2—3, p. 239—249.
27. Cooper K. W., Zimmering S., Krivshenko Y. D. Interchromosomal effects and segregation. — Proc. Nat. Acad. Sci. (USA), 1955, vol. 41, p. 911.
28. Dunn L. C., Benneth D. Sex differences in recombination of linked genes in animals. — Genet. Res., 1967, vol. 9, N 2, p. 211—220.
29. Glass B. Differences in mutability during different stages of gametogenesis in *Drosophila*. — In: Brokhave symposia in biology mutation, Assotiated Univ. Inc., 1955, vol. 8, p. 148—170.
30. Herskowitz I. H., Schalet A. Half-translocations induced by irradiation of oocytes as a basis of dominant lethals in *Dr. melanogaster*. — Genetics, 1956, vol. 41, N 5, p. 647.
31. Kaplan W. D., Tanaka T., Tanaka K. The sterility component of X-ray induced dominant lethals in *Drosophila melanogaster*. — Genetics, 1956, vol. 41, N 5, p. 649.
32. King R. C. The cell cycle and cell differentiation in *Drosophila ovary*. — In: Results and problems in cell differentiation. Berlin; Heidelberg; New York, 1975, vol. 7, p. 85—109.
33. Kutzelnigg H. Mutationsversuche mit N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidin an *Oenothera hookeryi*. — Radiat. Bot., 1972, vol. 12, N 2, p. 63—75.
34. La Chance L. E., Riemann J. G. Cytogenetic investigation on radiation and chemically induced dominant lethal mutations in oocytes and sperm of the screw-

- wormfly. — *Mutat. Res.*, 1964, vol. 1, p. 318.
35. La Chance L. E., Riemann J. G. Dominant lethal mutations in insects with holokinetic chromosomes. Irradiation of *Oncopeltus* (Hemiptera, Lygacidae) sperm and oocytes. — *Ann. Entomol. Soc. Amer.*, 1973, vol. 66, 4, p. 813—819.
  36. Nothel H. Der Einfluß von Röntgenstrahlen auf Vitalitätsmerkmale von *Drosophila melanogaster*. VI. Untersuchungen über die Fertilität. — *Strahlentherapie*, 1968, vol. 135, N 4, p. 493—499.
  37. Oakberg E. F. Mammalian gametogenesis and species comparison in radiation response of the gonads. — In: *Effects radiation meiotics systems*. Vienna, 1968, p. 2—15.
  38. Oster I. I. Modification of X-ray mutagenesis in *Drosophila*. 1. Reunion of chromosomes irradiated during spermiogenesis. — *Genetics*, 1955, vol. 40, N 5, p. 692—696.
  39. Parker D. R. The origin of dominant lethals in irradiated oocytes of *Drosophila*. — *Genetics*, 1955, vol. 40, p. 589.
  40. Parker R. K., Hammond A. E. The production of translocations in *Drosophila* oocytes. — *Genetics*, 1958, vol. 43, N 1, p. 92—100.
  41. Proust J., Sankaranarayanan K., Sobels F. H. The effects of treating *Drosophila* females with actinomycin-D on the yields of dominant lethals translocations and recessive lethals recovered from X-irradiated spermatozoa. — *Mutat. Res.*, 1972, vol. 16, N 1, p. 65—76.
  42. Roberts R. Chronic low-level exposures young mice to ionizing radiation and effect on fertility. — *J. Pediatr.*, 1954, vol. 44, N 3, p. 46—52.
  43. Rohborn G., Vogel F. Mutationen durch chemische Einwirkung bei Säuger und Mensch. 2. Genetische Untersuchungen an der Maus. — *Dtsch. med. Wochenschr.*, 1976, Bd. 22, N 30, S. 2315—2321, 2333—2334.
  44. Romanoff A. L. The avian embryo structural and functional development. New York, 1960.
  45. Russel L. B. The relative sensitivity of various germ-cell stages of the mouse to radiation-induced nondisjunction, chromosome losses and deficiencies. — In: *Abstr. Symp. «Repair of genetic radiation damage and differradiosensitivity in germ cells»*. Leiden, 1962.
  46. Russel W. L. Recent studies on the genetic effects of radiation in mice. — *Pediatr.*, 1968, vol. 41, N 1, pt. 2, p. 223—227.
  47. Rusted R. C., Yugama S., Rusted L. C. Cytoplasmic effects in radiation-induced mitotic delay. — *Radiat. Res.*, 1965, vol. 25, p. 234.
  48. Saccardo F. Effects cytogenetiques de l'irradiation des gametophytes chez le ble dur. — *Radiat. Bot.*, 1972, vol. 12, N 1, p. 31—35.
  49. Sonnenblick B. P. Cytology and development of the embryos of X-rayed adult *Drosophila melanogaster*. — *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1940, vol. 26, p. 373—381.
  50. Suter K. E. Chemical induction of presumed dominant lethal mutations in post-copulation germ cells of mice. 1. Relative sensitivity between pre- and postcopulation germ cells to isopropyl methansulfonate. — *Mutat. Res.*, 1975, vol. 30, N 3, p. 355—363.
  51. Takao K. e. a. Preliminary experiments of radiation breeding of the domestic fowls. — In: *Proc. XII Congr. Genet.*, 1968, N 1, p. 272.
  52. Tazima G., Onimaru K. X-ray induced dominant lethals from irradiation of different stages of oogenesis in silkworm. — *Ann. Report Natl. Inst. Genetics*, 1959, N 10, p. 5.
  53. Tazima Y., Onimaru K. Independence of induced mutation-rate from radiation dose-rate in germ cells of hibernating silkworm embryo. — *Ann. Report. Natl. Inst. Genet.*, 1963, N 14, p. 98—100.
  54. Tazima Y., Onimaru K. Further report on the increase in induced mutation frequency after fractionated irradiation of gonial cells of the silkworm. — *Ann. Report Natl. Inst. Genet.*, 1963, N 14, p. 97—98.
  55. Thaxton J. P., Parkhurst C. R. Abnormal mating behavior and reproductive disfunction caused by mercury in Japanese quail. — *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, 1973, vol. 144, N 1, p. 252—255.
  56. Traut H. Experiments on the mechanisms of X-ray induced chromosome loss. — *Mutat. Res.*, 1968, vol. 6, N 1, p. 109—115.
  57. Wakid A. F., Hayo J. M. Inherited sterility in progeny of irradiated male cotton leaf worm, *Spodoptera littoralis* Boisd. — *Use Isot. Pesticides and Pest Contr. Proc. Symp. Beirut (Lebanon)*, 1974, N 1, p. 125—130.